体外診断用医薬品
製品番号 6603262

**2009 年 11 月改訂
*2007 年 2 月改訂
承認番号 20900AMY00143000

日本標準商品分類番
877429

*単球キット
コールタークローン
MY4-RD1

ご使用に際しては、本添付文書をよくお読みください。

全般的な注意

1. 本品は、体外診断用でありそれ以外の目的に使用しないでください。
2. 診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください。
3. 添付文書等に記載した内容以外の方法で使用した場合には、保証しません。
4. ご使用にあたっては、測定装置の取扱説明書をよく読んでから使用してください。

形状・構造等(キットの構成)

本品は蛍光色素を標識したマウス・モノクローナル抗体試薬です。1 テストあたりのモノクローナル抗体含有量は各バイアルに記載しています。

対象抗原 :ヒト CD14 抗原(分子量 55KD)

抗原の分布 :CD14 は骨髄系分化抗原のひとつで、骨髄前駆細胞には発現せず、前単球以降の単球系細胞に強く発現します。正常末梢血単球の約 85%が陽性となります。同じ CD14 抗体である Mo2 とは異なるエピトープを認識しており、顆粒球にも弱く発現します。リンパ球、赤血球、血小板には発現しません。

クローン :322A-1(MY4);急性骨髄単球性白血病細胞で免疫した BALB/cJ マウス脾臓細胞と、マウス骨髄腫 P3/NS1/1-AG4-1 細胞との融合細胞から分離

Ig 構造 :マウス IgG2b-H 鎖及びκ-L 鎖

原料 :マウス腹水または培養上清

精製法 :イオン交換クロマトグラフィ

標識 :MY4-RD1:Phycoerythrin(PE)
PE / Protein :0.5～1.5
励起波長 :468～575nm
蛍光波長 :568～590nm

試薬濃度 :1 バイアル 0.5mL 中の抗体以外の各種成分の濃度

ウシ血清アルブミン	:0.2%
リン酸一カリウム	:0.01M
塩化ナトリウム	:0.15M
アジ化ナトリウム	:0.1%

使用目的

ヒト白血球表面抗原(CD14)の分析及び単球の測定

測定原理

測定方法はフローサイトメトリーを用いた直接免疫蛍光法です。すなわち、検体(全血または白血球)に本品を加え反応させた後、細胞に波長 488nm の励起光を照射して燈色蛍光(RD1)を発光させ、その蛍光を測定するものです。前方散乱光(FS)と側方(90° 方向)散乱光(SS)によるスキャッタ・サイトグラム中の腫瘍細胞領域にゲートをかけることにより、自動的に腫瘍細胞のみを計測し、蛍光強度の解析ができます。また、解析細胞数も数千個と多いため、高精度で再現性の高い良い結果が得られます。

操作上の注意

1. 抗凝固剤としては、EDTA、ヘパリン等を用いることができるが、いずれの場合でも採血後は室温で保存し、6 時間以内に染色してください。特に白血病細胞等では、保存によって急激に陽性率の低下を来たす場合がありますので注意してください。
2. 静脈血検体の場合、細胞のバイアビリティ(生存率)は 90%以上が理想的ですが、異常検体ではこれを下回ることがあります。
3. 凍結検体のバイアビリティは 85%以上が理想的です。
4. Ficoll-paque 調製サンプルを用いる場合、分離条件により結果が異なる場合があります。分離した細胞が FicoII-paque 分離液に長時間接触しているとバイアビリティが低下するため、分離後 5 分以内に遠心、洗浄してください。
5. 全血法の場合、溶血時間が長すぎると白血球にもダメージが及ぶことがあります。
6. 有核赤血球、蛋白濃度が異常な場合、ヘモグロビン合成異常では、赤血球の溶血が不完全となる場合があります。この場合、溶血していない赤血球が解析ゲート内に混入するために陽性率が実際よりも低くなるおそれがありますので注意してください。
7. 全血検体を Ficoll-paque 等で比重遠心分離した場合、分離して得られた単核細胞と分離前の全血検体とでは各細胞の比率が異なることがあります。このことは、白血球数が正常範囲内にあるような検体では比較的影響はないが、白血球減少症患者の検体では、特定のサブセットの選択的なロスが結果の精度に影響を及ぼす場合があります。
8. 白血球の大きさが正常とは異なるような疾患の検体や、分離操作が不適切な場合、分離が不完全となることがあります。分離後、明瞭な単核球層が認められなかったり、赤血球、赤血球破片、成熟顆粒球が多量に混入している場合は分離をやり直すことをお勧めします。
9. 溶血不良となるおそれがあるため、検体を試験管に分注する際は試験管のロや壁面に検体を付けないよう注意してください。付着した血液は、綿棒等で取り除いてください。
10. 病態と特定の白血球ポピュレーションの変動とは必ずしも一致しないため、測定結果は臨床及び他の診断上データと共に使用してください。
11. フローサイトメーターのレーザ光軸の設定不良や不適切なゲート設定により、誤った結果が得られる場合があります。とくに、白血病検体で腫瘍細胞の割合が少ない場合には、形態学的情報などを参考に腫瘍細胞に正しくゲートを設定してください。
12. 蛍光顕微鏡の場合は、蛍光顕微鏡の方式、光源、バルブの劣化、フィルタの組み合せ及び厚さにより結果が異なることがあります。また、蛍光の退色を防ぐため、細胞の計数はすばやく行なってください必要があります。
13. 測定結果の解釈を行う場合には、測定条件及び治療歴等も考慮してください。
14. CD14 は、主として骨髄単球系の腫瘍細胞に発現していますが、悪性リンパ腫の一部などでも陽性例がみられるので、骨髄(単球)性白血病の分類・同定には、必ずT細胞、B 細胞マーカー(CD2、CD3、CD5、CD19、CD20 など)の結果を組み合せて判断してください。
15. 顆粒球は正常でも MY4 抗原を弱く発現するため、解析ゲート内に顆粒球が混入すると MY4 の陽性率は増加します。
16. CD14 抗原分子は、グリコシル・フォスファチジルイノシトール(GPI)で細胞膜に結合する構造をとっており、GPI に異常のある発作性夜間血色素尿症(PNH)患者では、MY4 抗原の発現低下がみられます。
17. Ficoll-paque 調製サンプルにヒトγ-グロブリンを加えるのは、細胞表面の Fc レセプタを介する非特異反応を最小限にするためです。加えるγ-グロブリンは筋注用ヒトグロブリン製剤、あるいは加熱処理したヒトγ-グロブリンフラクション等で構いません。また、モノクローナル抗体反応液の調製に BSA や NBS を添加した PBS を使用することも抗体タンパクの非特異的な吸着を防ぐ上で効果があります。
18. CD14 によって検出・同定される単球系細胞は、他の白血球に比べて抗体タンパクの非特異的な結合が著しい場合が多いため、対照にはできるだけアイソタイプコントロールを用いてください。
19. 白血球数が 10,000 個/μL を越える検体は、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)を用いて白血球数が 10,000 個以内になるように希釈してください。
20. 正常細胞では問題ない抗体濃度でも、白血病検体等では陽性率の低下を来たす場合があります。したがって、モノクローナル抗体反応液の調製にあたっては用法・用量を守り、過剰な希釈は行わないでください。

用法・用量（操作方法）

【試薬の調製】

＜コールター・クローン MY4-RD1＞

使用時に検体数に応じて必要量（1 検体あたり 5μL）を分取し、1 検体あたりの添加量が 200μL になるように PBS（BSA 0.1%または NBS2%、アジ化ナトリウム 0. 1%を含むもの）を加えて増量し、モノクローナル抗体反応液とします。モノクローナル抗体反応液は使用時に調製し、保存は避けてください。

BSA :ウシ血清アルブミン
NBS :新生仔ウシ血清

【その他必要な試薬】

1. 溶血剤（次の 1）、2）のいずれかを使用します）

1）コールター全血ライジングキット

製品番号 6603152 容量 300 テスト

PBS（下記）24mL にイムノライズ*1mL を加えます。
フィクサティブ**はそのまま使用します。

* イムノライズ：コールター全血ライジングキット中の溶血試薬
**フィクサティブ：コールター全血ライジングキット中の固定剤（ホルマリンが含まれるため、取り扱いには十分注意してくだ さい）

2）塩化アンモニウム溶血剤

蒸留水 1L に以下の試薬を溶かします。

塩化アンモニウム	8.26g
炭酸カリウム	1.0g
EDTA4 ナトリウム（または 2 ナトリウム）	37mg

pH7.2～7.4 に調整し、密栓して室温保存します。（1 週間安定）

注意：1）、2）の各溶血剤は溶血に要する時間が異なります。コールター全血ライジングキットは 30 秒～2 分と短いが、反面、細胞に与える作用も強い。一方、塩化アンモニウム溶血剤は溶血に 10～15 分必要ですが、細胞に与える作用は比較的緩徐で、20～30 分放置しても結果に及ぼす影響は少ないとされています。いずれの溶血剤を使用するかは処理検体数に応じて選択してください。

2. PBS（リン酸緩衝生理食塩水）

各試薬を蒸留水に溶解し以下の濃度にします。

塩化ナトリウム	8.0g/L
リン酸 2 ナトリウム（12 水塩）	2.9g/L
リン酸 1 カリウム（無水塩）	0.2g/L
塩化カリウム	0.2g/L

pH7.2～7.4 に調整し、必要に応じて BSA を 0.1%、アジ化ナトリウムを 0.1%添加します。

3. アイソタイプコントロール

コールター・クローン MsIgG2b-RD1
製品番号 6603038 容量 100 テスト

4. Propidium Iodide

Calbiochem 製品番号 53705
0.01mg/mL または 0.05mg/mL に調製して使用します。

5. Acridine orange

Baker 製品番号 A366-3
0.005mg/mL で使用します。

6. Ficoll-paque 分離液

Pharmacia 製品番号 17-0840-03

【検体の採取と調製】

1. 全血を検体とする場合

検体には EDTA、ヘパリン等の抗凝固剤を用いて採血した末梢血を用います。染色に最適な白血球数の範囲は 3～10×10^3個/μL であるため、白血球数が 10×10^3 個/μL を超える場合は検体を希釈します。3×10^3 個/μL より少ない場合は遠心してバフィーコート（白血球層）を回収します。検体の希釈にはリン酸緩衝生理食塩水（PBS）を用います。

注）検体は採血後室温（20～25℃）で保存します。採血してから 6 時間以内に操作を開始してください。

細胞数の調整

a）白血球数が多い検体（＞10×10^3 個/μL）

白血球数		希釈倍率
10～20	×10^3	:2 倍
20～30	×10^3	:3 倍
30～40	×10^3	:5 倍
40～60	×10^3	:6 倍
60～100	×10^3	:10 倍
100～200	×10^3	:20 倍

＊白血病やリンパ腫検体でみられるタンパク異常による非特異的結合を減らすには、あらかじめ 37℃の PBS で洗浄します。

b）白血球数が少ない検体（＜3×10^3 個/μL）

バフィーコート法

1） 検体を 25℃で 500×g（1,700rpm）で 5 分間遠心します。
2） 白血球の層をピペットで採取します。この際、すべての白血球全部を確実に回収するため赤血球及び血漿も一部回収します。
3） 数回ピペッティングして、十分に懸濁させます。
4） コールターLH 700 シリーズ等のヘマトロジーアナライザーや血球計算板を用いて細胞濃度を測定します。
5） 細胞濃度を 10×10^3 個/μL に調整します。1 テストあたり 100μL を用います。

2. Ficoll-paque 調製サンプルを検体とする場合

1） 試験管に血液（抗凝固剤を含む）4mL を取り、ほぼ等量の PBS を加え、転倒混和します。
2） 別の試験管に Ficoll-paque 分離液 4mL を入れ、その上に 1）の希釈血液を重層します。
3） 常温で 400×g、30 分間遠心分離します。
4） Ficoll-paque 分離液と血漿の間の層をパスツールピペットで取り、別の試験管に移します。
5） PBS を加えてよく撹拌し、4℃で 400×g、8 分間遠心分離します。
6） 上清を吸引除去し、沈渣に PBS を加えてよく撹拌し、4℃で 400×g、4 分間遠心分離します。
7） PBS を加えてよく撹拌し、4℃で 400×g、3 分間遠心分離します。
8） 上清を吸引除去し、沈渣に PBS を加え、細胞濃度を 1×10^3 個/μL（1×10^6 個/mL）程度に調整します。
9） Fc レセプタを介した抗体試薬の非特異的結合が予想される場合は、本品を反応させる 10～15 分前にヒト-グロブリンを終濃度 1mg/mL 程度加えておきます。
10） 以下の a）または b）の方法を用いて、細胞のバイアビリティ（生存率）をチェックします。バイアビリティは 90%以上が理想的ですが、異常検体ではこれを下回ることがあります。

a）フローサイトメトリー法によるバイアビリティの確認

11） 試験管に 1×10^6 個（細胞濃度が 1×10^3 個/μL の場合 1mL）の細胞を分注します。
12） 冷 PBS を加え、4℃で 400×g、4 分間遠心分離します。
13） 上清を吸引除去し、0.05mglmL の Propidium Iodide 3 滴を加えて撹拌し、1 分間放置します。
14） 冷 PBS を加えて撹拌し、4℃で 400×g、4 分間遠心分離します。
15） 上清を吸引除去し、14）を繰り返します。
16） 上清を吸引除去し、フローサイトメーターで測定します。バイアビリティが 85%に満たない場合は、サンプルの調製をやり直すことをお勧めします。

b）蛍光顕微鏡法によるバイアビリティの確認

11） スライドグラスに 25,000 個（細胞濃度が 1×10^3 個/μL の場合（25μL）の細胞を載せます。
12） Propidium bdide（0.01mg/mL）10μL を載せ、マイクロピペットのチップの先で静かに撹拌します。
13） 30 秒間放置した後、Acridine orange（0.005mg/mL）10μL を載せ、マイクロピペットのチップの先で静かに撹拌して 3 秒間放置します。
14） カバーグラスをかけ、周囲をストップコック・グリスでシールし、ただちに蛍光顕微鏡で観察します。
15） 細胞を 100 個カウントします。生細胞は明るい緑色に、死細胞は赤色に観察されます。バイアビリティが85%に満たない場合は、サンプルの調製をやり直すことをお勧めします。

【操作方法】

1. 全血サンプルを用いた試験管法

1) モノクローナル抗体反応用及び対照用に12mmφ×75mmの試験管を用意します。
2) 各試験管に検体を 100μL ずつ分注します。
3) モノクローナル抗体反応液を加えます。対照用の試験管にはモノクローナル抗体反応液と同様に濃度調整した蛍光標識マウス IgG コントロール(MsIgG2b-RD1 等;別売)を同量加えます。
4) よく撹拌し、常温で 45 分間反応させます。
5) 以下の a)、b)のいずれかの方法で赤血球を溶血させます。

   a) 塩化アンモニウム溶血剤を用いる場合
   調製した溶血剤 2mL を加えてよく撹拌し、溶血が完了する(液の濁りが消える)まで 5～15 分間常温で放置します。

   b) コールター全血ライジングキットを用いる場合
   サンプルに PBS を加えて 400×g、5 分間遠心分離を行い、上清を注意深く吸引除去します。これに調製した溶血剤 1mL を加えてよく撹拌し、溶血が完了する(液の濁りが消える)まで 30 秒～2 分間常温で放置した後、フィクサティブ 250μL を加えて撹拌します。

6) 溶血が完了したら PBS を加え、撹絆します。
7) 4℃で 400×g、5 分間遠心分離します。
8) 上清を吸引除去します。
9) 適量の PBS を加え、よく撹拌します。
10) コールターEPICS®/Cytomics 等のフローサイトメーターを用いて測定します。検体は測定までアイスバス中で遮光保存し、できるだけ速やかに測定を行ってください。

2. Ficoll-paque 調製サンプルを用いた試験管法

1) モノクローナル抗体反応用と対照用に 12mmφ×75mm の試験管を用意します。
2) 各試験管に Ficoll-paque 調製サンプルを 1×10^6 個(細胞濃度が 1×10^3 個/μL の場合 1mL)ずつ分注します。
3) 4℃で 400×g、4 分間遠心分離し、上清を注意深く吸引除去します。
4) モノクローナル抗体反応液 200μL を反応用の試験管に加えます。対照用の試験管にはモノクローナル抗体反応液と同様に濃度調整した蛍光標識マウス IgG コントロール(MsIgG2b-RD1 等;別売)を同量加えます。
5) よく撹拌し、4℃で 30 分間反応させます。
6) PBS/mL を加え、4℃で 400×g、4 分間遠心分離し、上清を吸引除去します。
7) 6)の操作を 2 回繰り返します。
8) 適量の PBS を加え、コールターEPICS®/Cytomics 等のフローサイトメーターまたは蛍光顕微鏡を用いて測定します。検体は測定までアイスバス中で遮光保存し、できるだけ速やかに測定を行ってください。

3. Ficoll-paque 調製サンプルを用いたマイクロタイタープレート法

1) あらかじめ 1×10^6 個/200μL に調製した Ficoll-paque 調製サンプル 200μL を U 底 96 穴マイクロタイタープレートに分注します。
2) マイクロタイタープレートを 4℃で 400×g、5 分間遠心分離します。
3) ペレットを壊さないように注意して上清を完全に吸引除去します(先端を少し曲げたパスツールピペットを用いてください)。
4) プレートにふたをして、プレートの底にボルテックスミキサの先端をあてて、プレートの隅々までゆるやかにかつ十分に撹拌し、ペレットをほぐします。
5) モノクローナル抗体反応液 200μL を反応用のウエルに加えます。対照用のウエルにはモノクローナル抗体反応液と同様に濃度調整した蛍光標識マウス IgG コントロール(MsIgG2b-RD1 等;別売)を同量加えます。
6) 4℃で 30 分間反応させます。
7) マイクロタイタープレートを 4℃で 400×g、5 分間遠心分離します。
8) 3)、4)の操作を行います。
9) PBS200μL を加え、4℃で 400×g、5 分間遠心分離し、3)、4)の操作を行います。
10) PBS200μL を加え、適当な試験管に移し、コールターEPICS®/Cytomics 等のフローサイトメーターまたは蛍光顕微鏡を用いて測定します。

測定結果の判定方法

1. フローサイトメトリー法

1) 正しく調整したフローサイトメーターを用いて、目的とする細胞領域に適切にゲートをかけ測定します。
2) 蛍光ヒストグラムのカーソルは、アイソタイプコントロールを用いた時の非特異的な染色が 2%以下になる位置にセットします。カーソルの右側を抗体陽性領域とします。

2. 蛍光顕微鏡法

1) コールター・クローン MY4-RD1 で染色した Ficoll-paque 調製サンプル 200μL に、ホルムアルデヒド- PBS(10%)20μL を加えて撹拌します。
2) 浮遊液 1 滴を無蛍光スライドグラスに落としてカバーグラスをかけ、周囲をストップコック・グリスでシールします。
3) 直ちに蛍光顕微鏡で観察します。まず明視野位相差により視野内のすべての単核球を数え、暗視野に切り換えて同一視野内の蛍光の明瞭な細胞をカウントします。この繰り返しにより陽性率を求めます。

CD14 陽性率%=陽性単核球数／総単核球数×100

【測定条件の確認】

各検体の単核球に対する非特異的な抗体の Fc 結合を確認するために適切なネガティブ・コントロール抗体を用いてください。健常者検体の場合、ネガティブ・コントロール抗体陽性率は通常 1～2%ですが、腫瘍細胞の場合にはしばしば高い非特異反応を示すことがあります。

臨床的意義

免疫機構の機能的中心であるリンパ球を含む血液細胞は骨髄中の幹細胞を起源とし、分化成熟過程をへて末梢血、組織に現れます。各々の血液細胞はその細胞系統や分化成熟段階に、あるいは機能的サブセットに特有の細胞表面抗原を有しています。コールタークローン モノクローナル抗体は、このような細胞表面抗原を検出することによって免疫機構をさらに詳しく解明する目的で開発されました。

血液細胞の腫瘍である白血病／リンパ腫の治療には、その腫瘍細胞の由来(細胞系統及び分化段階)を知ることが重要になります。細胞系統を調べるには、形態学的情報及び細胞化学染色によるもの(FAB 分類など)、遺伝子の分析(TCR、IgH 遺伝子再構成など)、染色体異常の検出などとともに、細胞表面抗原の分析が非常に有用です。とくに、リンパ系腫瘍の亜分類(T細胞由来と non-T細胞由来の判別)や、骨髄系腫瘍でも形態的な判別の困難な場合に、細胞表面抗原分析は欠くことのできないものとなっています。

コールター・クローン MY4-RD1 は、単球系細胞の代表的分化マーカーである CD14 抗原を検出するモノクローナル抗体です。CD14 抗原は分子量 55kDa の膜糖蛋白で、機能的には LPS(細菌のリポ多糖)及び LPB(リポ多糖結合蛋白)の複合体に対する高親和性レセプタであることが明らかとなっています。コールター・クローン MY4－RD1 は、末梢血の単球や単球系の形質を有する骨髄性の白血病の検出・同定に有用です。

CD14 は、正常単球及び急性骨髄単球性または急性単球性の白血病(FAB 分類では AML-M4、M5)の 56～100%に発現し、MY4 抗体による白血病細胞マーカー分析は、これらの白血病の同定に有用です。急性骨髄性白血病(AML-M1、M2)では 33%以下の症例が MY4 陽性になりますが、前骨髄球性もしくは赤芽球性の白血病(AML-M3、M6)では認められません。また、急性リンパ芽球性白血病(ALL)の腫瘍細胞には通常発現しません。腫瘍細胞の MY4 抗原発現が高い症例は髄外病変や中枢神経系への浸潤傾向があり、AML では予後が良くありません。

性能

【特異性】

フローサイトメーターで管理用陽性検体(正常末梢血単球及び CD14 陽性の白血病細胞株)を測定したとき、陽性率は 95%以上でした。
このとき、正常ヒト末梢血リンパ球の陽性率は 5%以下でした。

また、本品で使用している MY4 モノクローナル抗体は、白血球分化抗原に関する国際ワークショップにおいて CD14 抗体として認定されています。

【既承認品との相関】

健常者または血液検査に異常を認めない外来患者の末梢血を検体としたとき、コールター・クローン MY4-RD1 と他社既承認 CD14 抗体試薬との相関性は次頁のとおり非常に良好でした。

コールター・クローン MY4-RD1
回帰直線 y＝1.08X + 1.50
相関係数 r＝0.93
検体数 n＝56

使用上または取扱上の注意

1. 本品にはアジ化ナトリウムが含まれています。アジ化ナトリウムは酸性下で有毒なアジ化水素酸を産生します。また、アジ化物が金属性の排水管内に蓄積することによる爆発の危険性を避けるため、アジ化物の廃棄は多量の流水で希釈して行ってください。
2. コールター全血ライジングキット中のフィクサティブにはホルマリンが含まれるため、取り扱いには十分注意してください。
3. 有効期限を過ぎた試薬を使用しないでください。
4. 検体及び検体に触れた器具類は感染の危険性があるものとして取り扱いをし、適当な表示、処理をして廃棄してください。
5. ピペットを口で吸引しないでください。皮膚や粘膜への検体の接触を避けてください。
6. 保管及びインキュベーション中に試薬を強い光にさらさないでください。
7. 試薬が微生物に汚染されないよう注意してください。

貯法、有効期限、安定性

1. 未開封の試薬は、冷蔵（2～8℃）で保存した場合に各バイアルに明記してある有効期限まで使用できます。
2. 試薬を凍結したり、長時間光にさらすことは避けてください。すべての試薬は使用する前に室温（20～25℃）に戻してください。
3. 試薬の外観に変化がみられたり、コントロール検体による測定値に大きな変化がある場合は、試薬の劣化が考えられるので使用しないでください。試薬の正常な外観は淡赤色の透明な液体です。

包装単位

コールター・クローン MY4-RD1
製品番号 6603262 容量 100 テスト

主要文献

1. Bernard A, Boumsell L, Dausset J, Milstein C, Schlossman SF: Leukocyte Typing : 1984. Berlin : Springer-Verlag : 108, 407.
2. McMichael AJ : Leukocyte Typing nl, White Cell Differentiation Antigens : 1 987. Oxford : Oxford University Press : 586-589.
3. Griffin JD, Ritz J, Nadler LM, Schlossman SF : 1981 Expression of myeloid differentiation antigens on normal and malignant myeloid cells. J Clin Invest 68 : 932-941 .
4. Nadler LM, Ritz J. Griffin JD, Todd RF, Reinherz EL, Schlossmsn SF : 1981. Diagnosis and treatment of human leukemia and lymphomas utilizing monoc]onal antibodies. In : Progress Hematology Vn. E.B. Brown: New York: Grune and Stratton : 1 87-225.
5. Griffin JD, Mayer RJ, Weinstein HJ, Rosenthal DS, Coral FS, Beveridge RP, Schlossman SF : 1983. Surface marker analysis of acute myeloblastic leukemia : Identification of differentiation-associated phenotypes. Blood 62 : 557-563
6. Merle-Beral H, Cong Duc LN, Leblond V, Boucheix C, Michel A, Chastang C, Debre P : 1989. Diagnostic and prognostic significance of myelomonocytic cell surface antigens in acute myeloid leukemia. Brit J Haematol 73 : 323-330.
7. Foon KA, Gale RP, Todd RF : 1986. Recent advances in the immunologic classification of leukemia. Sem Hematol 23 257-283. 8. -Foon KA, Todd RF : 1986. Immunologic classification of leukemia and lymphoma. Blood 68 : I -31 .
9. Hanson CA, Gajl-Peczalska KJ, Parkin JL, Brunning RD 1987. Immunophenotyping of acute myeloid leukemia using monoclonal antibodies and the alkaline phosphatase-antialkaline phosphatase technique. Blood 70 : 83-89.
10. Drexler HG, Menon M, Gaedicke G, Minowada J : 1986. Reactivity patterns of monoclonal antibod~~s positive on myelomonocytic leukemia cells as defined by esterase isoenzyme analysis. Cancer Immunol Immunother 21 : 188-1 92.
11. Drexler HG, Minowada J : 1986. The use of monoclonal antibodies for the identification and classification of acute myeloid leukemias. Leukemia Res 10 : 279-290.
12. Griffin JD, Davis R, Nelson DA, Davey FR, Mayer RJ, Schiffer C, Mclntyre OR, Bloomfield CD : i986. Use of surface marker analysis to predict outcome of adult acute myeloblastic leukemia. Biood 68 : 1 232-1 241 .
13. Medeiros LJ, Herrington RD, Gonzalez CL, Jaffe ES, Cossman J : 1991 . My4 antibody staining of non-Hodgkin's lymphomas. Am J Clin Pathol 95 : 363-368.
14. Warzynski MJ, Otto RN, Steingart RH, White DF, Rosen MH, Hetzel PC, Flatow FA, Podgurski AE, Johnson ML : 1991. MY4 expression on B-lymphocyte malignancies may be associated with a more adverse prognosis. Leuk Res 15 357-365. 15. Tasies D, Montserrat E, Reverter JC, Villamor N, Rovira M Rozman C : 1995. Myelomonocytic antigens in B-cell chronic lymphocytic leukemia. Leuk Res 1 9 : 841 -848.
16. Ziegler-Heitbrock HW, Pechumer H, Petersmann l, Durieux JJ, Vita N, Labeta MO, Strbel M : 1994. CD14 is expressed and functional in human B cells. Eur J Immunol 24 : 1 937-1 940.
17. Pedron T, Girard R, Chaby R : 1995. Variation of LPS-binding capacity, epitope expression, and shedding of membrane-bound CD14 during differentiation of human monocytes. ~ Immunol 155 : i460-1471 .
18. Heumann D, Barras C. Severin A, Glauser MP, Tomasz A: i994. Gram-positive cell walls stimulate synthesis of tumor necrosis f~ctor alpha and interleukin-6 by human monocytes. Iniect Immun 62 : 271 5-2721 .
19. Kielian TL, Ross CR, McVey DS, Chapes SK, Blecha F 1 995. Lipopolysaccharide modulation of a CDI 4-iike molecule on porcine alveolar macrophages. J Leukoc Biol 57 : 581 -586.
20. Qing G, Rajaraman K, Bortolussi R : 1995. Diminished priming of neonatal polymorphonuclear leukocytes by lipopolysaccharide is associated with reduced CD14 expression. Infect Immun 63 : 248-252.
21. Yasui K, Komoyama A, Molski TF, Sha'afi Rl : 1994. Pentoxifylline and CD14 antibody additively inhibit priming of poiymorphonuclear leukocytes for enhanced release of superoxide by lipopolysaccharide : possible mechanism of these actions. Infect Immun 62 : 922-927.
22. Yang Z, Khemlani LS, Dean DF, Carter CD, Slauson DO, Bochsler PN : 1994. Serum components enhance bacterial lipopolysaccharide-induced tissue factor expression and tumor necrosis factor-alpha secretion by bovine alveolar macrophages in vitro. J Leukoc Biol 55 : 483-488.
23. Shapira L, Takashiba S, Amar S, Van Dyke TE : 1994. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide stimulation of human monocytes.: dependence on serum and CD14 receptor. Oral Microbiol Immunol 9 : 1 12-1 17.
24. Parker TS, Levine DM, Chang JC, Laxer J, C, offin CC, Rubin AL : 1995. Reconstituted high-density lipoprotein neutralizes gram-negative bacterial lipopolysaccharides in human whole blood. Infect Immun 63 : 253-258
25. Pedron T. Girard R, Turco SJ, Chaby R: 1994. Phosphatidy linositol-anchored molecuies and inducible lipopolysacchaide bindin sites of human and mouse bone marrow cells. J Biol ChemL69 : 2426-2432.
26. Kawakami Z, Ninomiya H, Tomiyama J, Abe : i990. Deficiency of glycosyl-phosphatidylinocitol anchored proteins on paroxysmal nocturnal haemoglobinuria （PNH） neutrophils and monocytes : heterogeneous deficiency of decay-accelerating factor（DAF） and CD16 on PNH neutrophils. Brit J Haematol 74 : 508-513.
27. Ziegler-Heitbrock HW, Appl B, K~fer]ein E, Lbfler T : 1994. The antibody MY4 recognizes CD14 on porcine monocytes and macrophages. Scand J Immunol 40 : 509-51 4.
28. Ziegler-Heitbrock HW, Schraut W, Wendelgass P, Str6el M 1994. Distinct patterns of differentiation induced in the monocytic cell line Mono Mac 6. J Leukoc Biol 55 : 73-80.

**問い合わせ先

ベックマン･コールター株式会社

〒135-0063 東京都江東区有明三丁目５番７号 TOC 有明ウエストタワー
TEL： 0120-566-730 FAX： 03-5530-2460

**製造販売元

ベックマン･コールター株式会社

〒135-0063 東京都江東区有明三丁目５番７号 TOC 有明ウエストタワー